ETUDE

ULTRASTRUCTURALE PRÉLIMINAIRE DES RELATIONS TROPHIQUES COMPLEXES ENTRE LA MICROFAUNE ET LA MICROFLORE. MODÈLE CHAMPIGNON-ACARIEN

par Otto REISINGER

Laboratoire de Botanique et de Microbiologie, Université de Nancy-I

RESUME

L'action d'un acarien et de sa microflore associée sur des colonies et des organes d'un champignon est étudiée à l'aide des microscopes électroniques.L'effet du pélèvement de l'aliment, du broyage des cellules fongiques et le rôle des microorganismes dans la biodégradation du matériel ingéré sont définis.La décomposition de la paroi mélanisée du champignon est suivie jusqu'à l'apparition de la fraction résistante (=granules).

INTRODUCTION

La cellule fongique par sa richesse en substances trophiques représente un aliment de choix pour certains éléments spécialisés de la microfaune. Aussi paut-on admettre que ces derniers sont des agents importants de la biodégradation ou des régulateurs de développement des champignons, quand les facteurs microclimatiques sont favorables. L'examen au microscope photonique (MP) ou par des techniques microbiologiques de leurs contenus intestinaux (9,12) ou de leurs déjections (3,11) montre la présence de fragments d'hyphes ou de spores plus ou moins altérés.

Les études des types de relations entre microfaune et microflore édaphiques sont nombreuses (4). On ne possède cependant que des données fragmentaires sur les étapes de décomposition des champignons (5,7) et à notre connaissance aucun travail n'a été publié jusqu'ici sur l'ensemble d'une chaîne trophique incluant des éléments de la microfaune et aboutissant à la dégradation des

103e Congrès national des sociétés savantes, Nancy, 1978, sciences, fasc. III, p. 287-298.

cellules fongiques à paroi mélanisée.

MATERIEL ET METHODES

Le champignon utilisé, <u>Dendryphiella vinosa</u> (Berk. et Curt.)
Reisinger, est un Hyphomycète à paroi mélanisée. Il produit en culture pure 3 types d'organes; mycèlium, conidiophores et conidies, facilement identifiables aux microscopes électroniques (7).

<u>Tyrophagus putrescentiae</u>(Schrank) est un acarien détriticole parfaitement adapté à une source trophique constituée essentiellement de champignons (7).

Pour étudier son effet sur <u>D.vinosa</u> nous déposons 10 individus non stériles dans chaque boîte de Pétri contenant une culture âgée de 15jours.

Les déjections sont prélevées dès leur apparition ou sont laissées en place pour examens ultérieurs de l'effet de reconsommation. Dans le premier cas une partie est immédiatement soumise à l'étude alors qu'une autre est incubée en conditions aseptiques afin de suivre l'effet des microorganismes sur les débris structurés.

Pour le microscope électronique à transmission (MET) les déjections de différents types, décrits ci-dessus, sont traitées suivant le protocole habituel (7). Les coupes sériées sont contrastées au citrate de plomb ou selon la technique de la mise en évidence des substances de nature polyosidique (PO).

Pour le microscope électronique à balayage (MEB) les échantillons sont désséchés à l'air et métallisés à l'or-palladium.

RESULTATS ET DISCUSSION

I. EVOLUTION GENERALE DU MODELE EXPERIMENTAL.

Le modèle expérimental réunissant <u>D.vinosa</u> et <u>T.putrescentiae</u> au sein d'une enceinte close représente par son fonctionnement une chaîne trophique à plusieurs niveaux. Lors de l'apport de l'arthropode à la culture pure du champignon on introduit également la flore associée à <u>T.putrescentiae</u>. La partie fongique de cette flore, très variable suivant l'origine de l'acarien, se développe peu sur le milieu occupé par <u>D.vinosa</u> et ne joue pas un

rôle appréciable pendant la durée de l'expérience.La flore bactérienne par contre, plus stable, comprend régulièrement un <u>Bacillus sp.</u>, deux <u>Pseudomonas spp.</u>et un Actinomycète. Elle est très active et présente un effet notable.

L'évolution du modèle est caractérisée par 3 phases:

-Phase I. La production des organes fongiques (P) est supérieure à la consommation (C).L'arthropode prélève essentiellement la fraction extramatricielle jeune de l'appareil végétatif, les bactéries utilisent les matériaux des déjections.

-Phase II. Phase très courte répondant à la formule P=C.

-Phase III. Les microarthropodes se nourissent pendant cette phase aux dépens des parties refusées auparavant (base des conidiophores, mycélium intramatriciel).La reconsommation des déjections devient régulière.Cette observation prouve que pendant la phase I il ne s'agissait pas d'une incapacité de prélèvement,

Il est possible de modifier la durée de ces phases en utilisant plus ou moins d'acariens au début de l'expérience.

II. EFFET DE PRELEVEMENT.

mais d'une préférence alimentaire.

Le prélèvement des conidies ou des repousses jeunes entraîne un certain nombre de modifications morphologiques des organes fongiques. La figure 3 montre un conidiophore amputé de sa repousse au niveau de sa cloison basale. La cellule vivante sousjacente élabore alors (fig. 4) une hyphe de régénération (R) qui sera prélevée à son tour. Des superpositions de parois successivement élaborées et hyalines caractérisent alors certaines structures (fig. 10). Au cours de ces processus le cytoplasme s'épuise (fig.5) et perd ses réserves typiques: lipides et glycogène (fig.2).

L'enveloppe peut également s'épaissir de façon inhabituelle dans la partie basale des conidiophores (fig.2).

La phase I est donc caractérisée par un processus d'autoaccélération de durée limitée où l'importance du prélèvement induit la prolifération excessive des organes jeunes.

III. ETUDE MICROMORPHOLOGIQUE DES DEJECTIONS.

L'examen au MP ou au MEB montre que les pelotes fécales

jeunes (fig.6,7) contiennent des débris importants alors que celles plus âgées ou issues de la phase III possèdent une matrice plus homogène.

L'étude des coupes fines révèle dans les excrèments des débris de parois conidiennes (fig.9,12) reconnaissables à la persistence des échinulations typiques des spores intactes (fig.1). Les cellules jeunes peu pigmentées et préférées par l'acarien sont donc parfaitement digérées. Il en est de même pour la zone non mélanisée de la couche fondamentale (B) qui est fortement altérée (fig.9,12) ou totalement solubilisée (fig.11). Dans ce dernier cas les résidus, constitués par la zone pigmentée de la couche B, ressemblent à ceux obtenus par solubilisation enzymatique (fig. 13) des parois purifiées (8).

Les pelotes fécales contiennent toute une série d'autres produits structurés que nous ne pouvons pas étudier ici.

Dans des excrèments plus âgés ou provenant de la phase II on note le développement de la population procaryotique: Actinomycètes (fig.15) et bactéries (fig.16).Ces microorganismes pénètrent à l'intérieur des loges vidées grâce aux ruptures réalisées par l'acarien lors de l'ingestion (fig.17). Ils envahissent ensuite les autres cellules à travers les perforations septales (fig.15). Leur action devient alors très efficace et aboutit à la fragmentation des résidus (fig.14). La fraction pigmentée subit des altérations importantes et les granules de mélanine (7) commencent à apparaître (fig.19). Ces granules constituent finalement les résidus les plus importants des déjections récoltées pendant la phase III ou incubées en absence d'arthropodes pendant 3 mois (fig.21,22). Une telle libération de granules ne peut être obtenue in vitro à partir de parois purifiées qu'après l'action de solvants brutaux tels que la soude (fig.23). La population bactérienne met donc en oeuvre une série d'enzymes que nous n'avons pas encore réussi à obtenir in vitro. Elle élabore également des produits extracellulaires (fig. 18,20) qui servent avec les corps bactériens de source trophique pour l'acarien lors de la reconsommation des déjections. Cette reconsommation accélère la libération des granules. L'action bactérienne transforme donc les pelotes fécales en un aliment nouveau pour les arthropodes.

III. POSSIBILITE DE DISSEMINATION DU CHAMPIGNON.

Le champignon peut être disséminé par des cellules survivantes dans les déjections ou par spores adhérant à la surface de l'animal (1,7,10).

L'étude du premier cas montre que dans notre modèle la dissémination trophique est peu efficace. Les loges vivantes se transforment en éléments dépourvus de paroi mélanisée et deviennent très sensibles aux enzymes bactériennes et aux changements de degré hygrométrique (7). Comme nous l'avons déjà montré des spores de taille plus petite peuvent cependant survivre avec un taux important dans les déjections (7). Des colonies fongiques peuvent se former, sur des milieux convenables à partir de telles déjections et apporter ainsi à l'acarien des aliments nouveaux.

CONCLUSIONS

Des études précédentes ont montré que <u>T.putrescentiae</u> est attiré par un certain nombre de champignons (2,7).11 préfère même les colonies de <u>D.vinosa</u> aux autres espèces fongiques toutes issues d'un même milieu écologique (7).Les résultats rapportés dans ce travail révèlent également un choix trophique secondaire de cet acarien.L'arthropode ne prélève, en effet, dans la phase I où il a à sa disposition l'appareil végétatif intact, que les organes jeunes et les conidies. Aux amputations ainsi réalisées le champignon répond par l'élaboration d'hyphes de régénération fournissant ainsi d'autres aliments préférés. Cette équilibre précaire dans notre expérimentation a une durée probablement plus longue dans les conditions naturelles.

Les procaryotes introduits dans notre expérimentation par T.putrescentiae ont un effet indiscutable sur les matériaux des déjections. Ils transforment ces derniers et les rendent plus digestibles pour la reconsommation. Il est cependant indiscutable que la coprophagie, réalisée librement dans la nature par une fraction spécialisée de la microfaune, peut apparaître comme une obligation dans la phase III de notre modèle. Il n'en reste pas moins que les déjections prélevées dans la nature contiennent soit des

fragments de spores de <u>D.vinosa</u> soit des granules mélaniques semblables à ceux obtenus lors de ce travail. Aussi peut-on affirmer, avec prudence, que la biodégradation <u>in situ</u> de <u>D.vinosa</u> ne diffère pas fondamentalement dans son biotope de celle que nous venons de décrire.

Quant à l'ensemencement des déjections dans notre modèle par une flore spécialisée de l'acarien on peut admettre qu'il s'agit là d'une association idéale.Il n'est cependant pas certain qu'il en soit de même dans la nature.L'excrèment y représente, en effet, un microhabitat nouveau et soumis aux lois de la compétition.Sa colonisation par la microflore s'effectuera, mais l'effet de cette dernière sera soumis aux facteurs pédoclimatiques limitant

Rappellons encore que le broyage des cellules fongiques réalisé par l'arthropode augmente la surface disponible aux attaques microbiennes, et rend surtout accessible la face interne des enveloppes toujours plus sensibles aux lyses enzymatiques (7).

L'examen au MEB des arthropodes révèle dans tous les cas des spores adhérant à la surface de l'animal. Aussi des acariens déposés sur un milieu stérile matérialisent leurs déplacements par l'apparition de colonies fongiques pouvant fournir des aliments convenables pour le développement d'une population (7). Ce type de dissémination serait donc mutuellement bénéfique pour les deux partenaires. Par contre l'efficacité de la dissémination trophique (par propagules intactes contenues dans les déjections) est soumise à un certain nombre de facteurs tels que; -l'efficacité du broyage, -l'effet de la digestion, -l'aptitude de la microflore à dégrader les propagules fongiques, -l'épaisseur et résistance de la paroi cellulaire, etc.

En conclusion le modèle expérimental étudié ici démontre l'existance de relations étroites, souvent mutuellement bénéfiques entre les éléments de la microfaune et leur environnement microbien.

BIBLIOGRAPHIE

(1) CERVEK (S.) -1971. -Fertility of conidiospores of Penicillium sp. in the excrements of Entomobrya purpurascens (Packard)

- Collembola Entomobrydae, Ann.Zool.Ecol.An., h.s., 69-72.
- (2) GEERAERTS (J.) -1975. -Etude par le test en croix de l'attraction exercée par divers champignons sur <u>Tyrophagus putres-</u> <u>centiae</u>(Schrank,1781), <u>Mykosen</u>, 18, 385-392.
- (3) McMILLAN (J.H.), HEALEY (I.N.) -1971. -A quntitative technique for analysis of the gut contents of Collambola, <u>Rev.Ecol</u>. <u>Biol.Sol</u>, 8, 295-300.
- (4) MIGNOLET (R.) -1972. -Etat actuel des connaissances sur les relations entre la microfaune et la microflore édaphiques, Rev.Ecol.Biol.Sol, 9, 655-670.
- (5) OLAH (G.M.), REISINGER (O.), KILBERTUS (G.) -1978. -Biodégra-dation et humification. Atlas ultrastructural. éd. Presses de l'Université Laval, (sous presse).
- (6) POOLE (T.B.) -1959. -Studies on the food of Collembola in a Douglas fir plantation, Proc.Zool.Soc.Lond., 132, 71-82.
- (7) REISINGER (0.) -1972. -Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques Hyphomycètes à paroi mélanisée.Genèse, modifications et décomposition. (Thèse Sciences Naturelles, Nancy, 2 vol. 200pp, 198 fig.).
- (8) REISINGER (0.), BONALY (R.) -1971. Etude des modifications ultrastructurales des parois de <u>Dendryphiella vinosa</u>(Berk. et Curt.) Reisinger après traitements chimiques et enzymatique, <u>C.R.Acad.Sci., Paris</u>, D, 274, 50-53.
- (9) SCHUSTER (R.) -1956. -Der Anteil der Oribatiden and der zersetzungsvorgänger im Boden, Z.morph.okol.Tiere, 45,1-33.
- (10) SHEREEF (G.M.) -1971. -Observations on the feeding, reproduction and faeces obtained from oribatids fed on different species of <u>Penicillium</u> and <u>Aspergillus</u>, <u>Ann.Zool</u>. <u>Ecol.An</u>. h.s., 165-176.
- (11) SINGH (S.B.) -1964.-A preliminary observation on the food and feeding habits of some Collembola, Entomologist, 97, 153-154.
- (12) WALLWORK (J.A.) -1958. -Notes on the feeding behaviour of some forest Acarina, Oikos, 9, 260-271.

EXPLICATION DES PLANCHES.

PLANCHE I.

- Fig.1. Conidies échinulées, caractéristiques de D. vinosa.
- Fig. 2. Jeune conidie. Paroi composée d'une couche externe
 - (A) et d'une assise fondamentale (B). Couche interne (C) pas encore formée. L:lipides, G:glycogène.
- Fig.3. -Repousse du conidiophore amputée par un acarien. P:perforation septale. (modulation Y).
- Fig. 4. Repousse interne du type hyphe intrahyphale. (R).
- Fig. 5. -Conidiophore à cytoplasme appauvri à la suite des prélèvements successif de ses repousses par les acariens.

PLANCHE II.

- Fig. 6,9-Déjection avec débris de conidies.
- Fig.7. Conidies peu altérées dans une pelote fécale.
- Fig. 8. -Aspect général d'une déjection âgée.
- Fig.10.-Aspect d'un conidiophore avec des parois superposées.
- Fig.ll.-Paroi et cloison transversale d'une conidie ingérée.
- Fig.12.-Contenu intestinal peu après l'ingestion. La zone apigmentée de la paroi est fortement altérée. L: lipides. (PO)

PLANCHE III.

- Fig.13.-Paroi conidienne purifiée après action de l'Hélicase.
- Fig.14.-Etape de lyse dans une déjection.Paroi peu altérée dans le tractus digestif.
- Fig.15.-Enveloppe conidienne colonisée par un Actinomycète dans une déjection.
- Fig.16.-Type morphologique des bactéries des déjections (PO).
- Fig.17.-Développement des microorganismes dans une déjection.

PLANCHE IV.

- Fig.18,20.-Types morphologiques des bactéries des déjections et produits du métabolisme bactérien.
- Fig.19.-Libération des granules dans une pelote fécale incubée en conditions aseptiques.
- Fig.21,22.-Granules de mélanine (fig.21 PO).
- Fig.23.-Granules obtenus <u>in vitro</u> par action de la soude sur des parois purifiées.







